

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許出願公告番号

特公平6-47539

(24)(44)公告日 平成6年(1994)6月22日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup> A 6 1 K 31/52 // C 0 7 D 473/12	識別記号 AAM AAB	庁内整理番号 9360-4C	FI	技術表示箇所
--	--------------------	-------------------	----	--------

請求項の数3(全 7 頁)

(21)出願番号	特願平2-311254	(71)出願人	999999999 アディール エ コンパニー フランス国クールベボワ セデックス, リ ュ カルル エベル, 1
(22)出願日	平成2年(1990)11月16日	(72)発明者	アニー カモウン フランス国 ヌイユ スル セーヌ, リュ デ シャルトレ 26
(65)公開番号	特開平4-95029	(72)発明者	エリザベス モカエル フランス国 ヌイユ スル セーヌ, リュ シャウボウ 32
(43)公開日	平成4年(1992)3月27日	(72)発明者	ジルベール ルグニエール フランス国 シャトウネイ マラブリイ, パッド.ディー, アブニュ ドウ プレシ ス 27
(31)優先権主張番号	9 0 1 0 2 3 5	(74)代理人	弁理士 浅村 皓 (外3名)
(32)優先日	1990年8月10日		
(33)優先権主張国	フランス(FR)	審査官	鶴見 秀紀
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 記憶障害、老化知能障害およびアルツハイマー病の治療のための1, 3, 7-トリメチルキサンチン誘導体の使用

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 活性成分として、1, 3, 7-トリメチル-8-[3-(4-ジエチルアミノカルボニルピペラジノ)プロピル]キサンチン、あるいはその生理学上許容しうる酸付加塩の一つを含有する、記憶障害、老化知能障害、アルツハイマー病治療用医薬品組成物。

【請求項2】 活性成分として、1, 3, 7-トリメチル-8-[3-(4-ジエチルアミノカルボニルピペラジノ)プロピル]キサンチン塩酸塩を含有する、記憶障害、老化知能障害、およびアルツハイマー病治療用、請求項第(1)項記載の医薬品組成物。

【請求項3】 2から50mgの活性成分を、適当な製薬賦形剤との混合物として、あるいは賦形剤と一緒に、含有する、請求項第(1)項および第(2)項記載の医薬品組成物。

2

【発明の詳細な説明】

本発明は記憶障害、老化知能障害、およびアルツハイマー病治療用医薬品の製造のための1, 3, 7-トリメチルキサンチン誘導体の使用に関する。

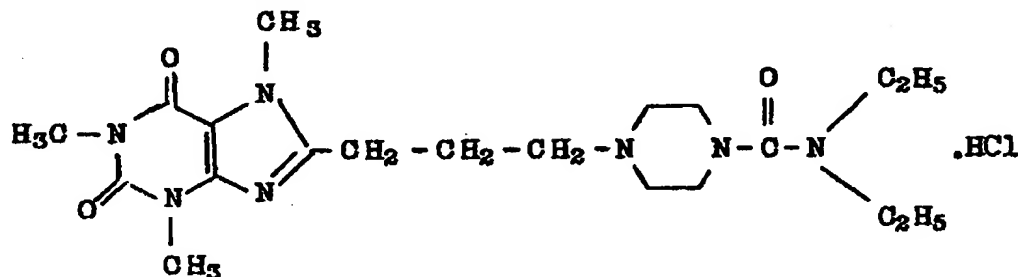
更に詳しく言えば、本発明は記憶障害、老化知能障害、およびアルツハイマー病治療のための医薬品製造に対する、1, 3, 7-トリメチル-8-[3-(4-ジエチルアミノカルボニルピペラジノ)プロピル]キサンチンおよびその生理学上許容しうる酸付加塩の使用に関するものである。

米国特許第4,599,338号明細書に、1, 3, 7-トリメチル-8-[3-(4-ジエチルアミノカルボニルピペラジノ)プロピル]キサンチンおよびその生理学上許容しうる酸付加塩が、一方ではその鎮痛特性の理由で、また他方では精神賦活薬としての理由により、50mg/kg

経口の投与量で、片頭痛および無力症の治療に使用できると記載されている。

本発明者等は、1, 3, 7-トリメチル-8-[3-(4-ジエチルアミノカルボニルピペラジノ)プロピル]キサンチンおよびその生理学上許容しうる酸付加塩に興味ある性質、とりわけ記憶の獲得および保持を促進する性質、および抗健忘症性を有することをここに発見した。これら性質のため、片頭痛の治療に対して以前に使用された投薬量よりもはるかに少ない特別な投薬量で、記憶障害、老化による知能障害、およびアルツハイマー病の治療に向けられる医薬品の製造に上記化合物が使用できるようになった。

本発明のもう一つの目的は、活性成分として、1, 3, 7-トリメチル-8-[3-(4-ジエチルアミノカルボニルピペラジノ)プロピル]キサンチンあるいはその \*



(I)

の1, 3, 7-トリメチル-8-[3-(4-ジエチルアミノカルボニルピペラジノ)プロピル]キサンチン塩酸塩を使用して行なった。

#### 例1

記憶獲得と覚えることの速度に及ぼす生成物Iの効果  
GALEY, DURKIN, SIFAKIS, KEMPFおよび  
JAFFARD, Brain Res., 340, 171-174 (1985)により記述されたこの使用手順により次の測定が可能となる:

- 1) 覚えることおよび場所の記憶に及ぼす治療効果をしばしば予想できる方法の変法で、自発的変更の測定。
- 2) 単純空間識別(右-左)(正常動物は約20回の試行でマスターする)の獲得速度の測定。
- 3) 24時間後に行なわれた実験中のこの識別の記憶の評価。

#### (A) 技術および方法

##### 動物

未だ実験に使われたことのない12から14週令のBALB/c株雄マウス50匹を使用した。これらのマウスを空調した動物実験室(22℃)内の個々のケージに保ち、12時間の人工明/暗サイクル(0800~2000時間)を与えた。

##### 装置

これは灰色のPlexiglasからつくられたT字形の迷路である。その中央通路および二つの到達アームは長さ35 ※50

\* 生理学上容許しうる塩の一つを、適当な製薬用賦形薬との混合物として、あるいは賦形薬と一緒に、含有する医薬品組成物である。

このようにして得られたた医薬品組成物は、経口あるいは経口投与とりわけ静脈内投与、に適した剤形で、例えば錠剤、糖衣錠、ゼラチン被覆丸剤、および注射用あるいは飲用溶液として有利に提供される。

投薬量は、患者の年齢および体重、投与方法、治療適応症および付随する処置の性質、に従って変化し、1用量当たり活性成分2から50mgを1日に1回から3回投与する。

下記の例は本発明を説明するものであつて、如何なる仕方においても本発明を制限しない。

下記のあらゆる試験は、活性成分として(特に水溶性がよいので)式I:

※cm、幅10cm、高さ25cmの寸法をもつ。出発室(10×12cm)は中央通路からギロチングートにより隔てられている。各アームへの入口にもゲートを設けてある。

#### 操作手順

##### 慣習化

実際の実験は、10分間の2回慣習化セッション(自由採食なし、1セッション/日)の後で行なう。

##### 空間識別の自発的変更と記憶獲得

これら2回の試行をその翌日に中断することなく行なう。最初の6回の実験中、食物を二つのアームの端に配置する。各実験中、動物を出発室に30秒間(実験と実験の間の時間)置く。中央通路に通じるゲートを開き、動物が二つのアーム(30秒間閉じたままにしておく)の間を選べるようにする。正常な動物は、成功する選択

- 40 (変更の約65%)を交互に選ぶことが分かる。7番目の実験から始めて、食物を一つのアーム(常に同じアーム)にだけ置く。動物が間違わずに続けて5回の実験を順調に終えるまで(即ち、食物を置いたアームに5回行く、基準)この試行を続ける。

##### 空間識別の保持

これは24時間後に、記憶獲得と同じ条件下で行なう。動物が再び5匹のうち5の基準に達するまでこの試行を続ける。

##### 群

50匹の動物を10匹からなる5群に分けた。一対照一

対照（処置せず）

—溶媒—溶媒（同条件下で7%NaCl0.1ml/10g）

—薬物—薬物（各試行の30分前に生成物Iを注射：0.0625-0.25-1mg/kgを腹腔内投与）

## (B) 結果

### 1) 自発的変更

5群の結果を第1図に要約する。最小用量（D1：0.0625mg/kg）で変更百分率が59.0±3.1%から72.0±5.3%に向上している。

### 2) 空間識別の獲得

結果を第2図に要約する。0.0625mg/kg（D1）の投薬量で投与すると、生成物Iは試行回数を基準値に非常に有意に減少させることが分かる。生成物Iは獲得速度を用量依存的に改善する。用量D1は、用量D2および用量D3よりも高い獲得速度を与える。

### 3) 空間識別の保持

結果を第3図に要約する。0.0625mg/kgの投薬量でこの生成物は、試行回数を非常に有意に基準にまで減少させる。これはより高い投薬量に対して起こらない。この場合もまた用量依存型の促進効果があり、用量D1は、D2およびD3より有意に迅速に基準に到達させる。

### 4) 結論

各試行の30分前に、生成物Iを腹腔内投与すると、自発的変更、獲得、および24時間後の空間識別の保持が向上する（T字形迷路で実験を行なう）。これらの促進効果は、操作手順で用いた最低投与量（0.0625mg/kg）では観察されるが、二つの高投薬量（0.025mg/kgおよび1mg/kg）では観察されない。

## 例2

記憶現象の保持に及ぼす生成物Iの効果

### 1) ラットにおける受動的回避の調整の研究

#### A) 方法論

この試験においては、ラットが大きい白い区画および小さい黒い区画を5分間自由に探検できる。各区画で費した時間を記録し、また白い区画の中に解放されたラットが、最初黒い区画の中に行くまでに要した時間量も記録する。次に各ラットを黒い区画内に促え、足に電気ショックを与える（これは回避できない）。1分後ラットは更に5分間の試行を受ける。この試行ではラットが白区画または黒区画のいずれの中にも自由に行けるようになっていく。黒い区画の中に行くまでに要した時間および黒い区画の中に留まった時間を記録する。次にこの受動的回避の応答の記憶定着を48時間後全ラットについて試験する。

生成物Iを下記投薬量（塩基として表示）で試験した：0.00625, 0.25, 1および4mg/kg。対照ラットには蒸留水を与えた。すべての注射は獲得セッションの30分前に腹腔内投与し、記憶定着試験は48時間後に行なった。各投薬量に対し10匹のラットを用いた。

#### B) 結果

もし黒の区画に行く前に要した時間を考慮するならば、対照動物は48時間後に行なわれた試験の間に定着がなかったことが分かる。しかし、全体として投薬動物群は記憶の定着を示した。

すべての群に対するデータを分析したところ、ショックを与える前の状況と比べて、動物が48時間後黒区画で費した時間は有意に短かかったが、生成物×試行の相関は取るに足らぬ意味でしかない。対照群および0.0625mg/kg群のデータだけを分析した場合には、生成物×試行の相関は統計学的に有意であった。

### 2) 行動および関連記憶

#### A) 方法論

この試験においては、ラットが砂糖菓子を褒美にもらうので、ラットに餌を与えなかった。訓練開始前に、ラットにこの砂糖菓子を馴れさせるため、5日間にわたりラットにケージ内でこの食物を与えた。

各試行において、九つの可能な孔のうち反対側の三つの孔にこの砂糖菓子を置いた。ラットの仕事は菓子を入れた孔にやつて来て、食物を取り、食べ、いつたん孔から菓子を取り出してしまったならばその孔へ戻らないことである。毎日砂糖菓子を入れて置く孔は同じなので、従って菓子を置いてない孔にやつて来ることは関連記憶の錯誤を示す。既に食物を取り出して食べてしまった孔にまたやつて来ることは、この実験における行動記憶の錯誤を示す。実行すべき仕事（三つのうまい食物を取り出して食べる）を仕上げるために要した時間、ならびになされた錯誤の回数と性質によりパフォーマンスを分析する。1日につき1回の試行を行なった。動物が基準（仕事を60秒未満で実行し、三つの砂糖菓子を取って食べ、一回より多い錯誤を犯さない）を満したとき、それらをケージ内で安静にさせてから、その7日後もう一回試験にかける。3週間後に記憶定着を試験する。

雄Listerラットを用いた。その10匹を次の群の各々に割当てた：対照（水）；生成物I（0.0625mg/kg, 0.25mg/kg, 1mg/kg, および4mg/kg；すべての投薬量は塩基として表わした）。各日試験の30分前に生成物Iを腹腔内注射により投与した。

#### B) 結果

動物全部に仕事をするよう覚えさせた。全体として生成物Iは、仕事を実行するために要する時間を有意に変化させなかった。

全体として、ラットを7日の間隔をおいた後で再び試験したとき、ラットが仕事を実行するのに有意に多くの時間を要した。

生成物Iは犯した誤りの数に対し全体的に効果を示さなかった。

これら群は7日目に犯した誤りの総数に差があつた。この場合、0.0625mg/kg群は犯した誤りの総数が対照群よりも有意に少なかった。この記憶定着試験でなされた誤りの異なる型を分析したところ、0.0625mg/kg群は犯し

た各型の誤りが少なく、また関連記憶の錯誤に対する差は統計学的に近いことが分かった。

### 3) 結論

この実験に選ばれた仕事は、異なる型の記憶を測定する。生成物 I は、試行の間に 48 時間という長い遅れを用いたときでさえ、長期の常習性に対し効果をもたないことは明らかである。

褒美を与えて仕事を覚えさせる場合、生成物 I は覚え込みを抑制する傾向を示した（特に、最低投薬量において）。しかし、1 週間後の記憶定着に対する試験では、最低用量 (0.0625mg/kg) が犯した錯誤数（特に関連記憶錯誤）を有意に減少させた。これはこの仕事の長期記憶定着における改善を示すものである。同じ投薬量で受動的回避反応の長期（48 時間）定着が改善された。従って、生成物 I は報酬付きの仕事および懲罰付きの仕事両方の長期記憶定着を改善すると結論できる。

### 例 3

#### 生成物 I の抗健忘症作用

1) マウスの受動的回避試験において、スコポラミンにより誘発した健忘症に及ぼす生成物 I の効果

#### A) 方法論

1 群当りの平均体重 24 g から 27 g を有する N.M.R.I. 株の雄マウスについてこの試験を実施した。

生成物 I : 蒸留水溶液として、

ピラセタム（標準生成物）：蒸留水溶液として、スコポラミン臭化水素酸塩：0.9%NaCl 溶液中の溶液として。

すべての実験を人工光の中で室温（20～21℃）において行なった。LENEGRE A. 等, Pharmacol. Biochem. Behav., 29, 625-629 (1988) の技術に準じた試験を次のように実施した。

二区画をもつ箱の照明した区画（10×10×29cm）の中に 1 匹のマウスを入れた。このマウスが、より大きい寸法（19.5×16.5×29cm）の暗い区画に通じる通路を 4 本の足全部で通過したとき、マウスが照明した区画に戻るまで僅かな電気ショック（0.35mA）を受ける。そのマウスを照明区画から直ちに切り除く（S1）。そのマウスを 24 時間後この系に再び導入したとき（S2）、マウスは暗い区画に入ることを回避する。暗い区画に入ることに要した時間を 180 秒まで測る。

S1 の 30 分前にスコポラミン（1mg/kg）を腹腔内注射すると、記憶が減退する。これをセツション S2 でマウスが暗い区画中に入るために要した時間により測る。この健忘症はピラセタムのようなヌートロピック剤により軽減される。SCHINDLER U. 等, Drug Dev. Res., 4, 567-576, (1984) 参照。各群 18 匹の動物を用いて研究した。この実験はめくらで行なった。

生成物 I を次の投薬量で調べた。0.25, 1.4 および 16 mg/kg（第一実験）および 0.0625, 0.125, 0.25 および 0.5 mg/kg（第二実験）を S1 の 60 分前に経口投与した。

ピラセタム（2048mg/kg 経口）は、同じ実験条件下

で投与し、二つの実験における標準化合物として用いた。

### B) 結果

これらの実験条件下で、生成物 I は 0.0625mg/kg から 0.5 mg/kg に及ぶ投薬量において、スコポラミンにより誘発された健忘症と有意に拮抗した。より高い投薬量（1.4 mg/kg および 16 mg/kg）においては、有意な効果が見られなかった。従って、これらの結果により、生成物 I は広範囲の投薬量にわたり、抗健忘症活性をもつと結論できる。

2) マウスの受動的回避試験におけるジアゼパムまたは電気ショック誘発健忘症に及ぼす生成物 I の効果

#### A) 方法論

用いた操作条件および試験は上記（1）-A 参照）と同一であるが、ここでは健忘症をスコポラミンにより誘発するのではなく、

アラビアゴムの 5% 懸濁液中の分散液として用いたジアゼパム

〔この場合、S1 の 30 分前にジアゼパム（1mg/kg）

20 の腹腔内注射により記憶を減退させる。これはセツション S2 において、マウスが暗い区画に行くために要した時間により測る。この健忘症は、ピラセタムのようなヌートロピック剤により軽減される。SCHINDLER U., Drug Dev. Res., 4, 567-576, (1984) 参照。各群 18 匹の動物で研究した。実験はめくらで行なった。

生成物 I は次の投薬量：

0.0312, 0.0625, 0.125 および

30 0.25mg/kg を、S1 の 60 分前に経口投与することにより調べた。

ピラセタムは同じ実験条件下で投与し（2048mg/kg、経口）、標準化合物として使用した〕により誘発させるか、あるいは電気ショックにより、

〔この場合、S1 直後に与えた電気ショック（矩形波電流、0.4 秒、50mA、50Hz、Ugo Basile ショック発生器に接続した一時的電極による）により記憶を減退させる。これはセツション S2 において、マウスが暗い区画に行くために要した時間により測る。この健忘症は、ピラセタムのようなヌートロピック剤により軽減される。BANFI 等, J. Pharmacol. Meth., 8, 255-263, (1982) 参照。

各群 18 匹の動物を用いる。実験はめくらで行なう。

生成物 I は、次の投薬量：

0.0312, 0.0625, 0.125 および 0.25mg/kg を、S1 の 60 分前に経口投与することにより調べた。

ピラセタム（2048mg/kg、経口）は、同じ実験条件下で投与し、標準化合物として使用した〕

誘発させた。

### B) 結果

上記操作条件下で、生成物 I は、ジアゼパムの健忘症誘発効果と、試験した最高投薬量 (0.25mg/kg) に対し 97% の拮抗で用量依存的に拮抗し、電気ショックの健忘症誘発効果とは、どんなショック量でも拮抗しなかつた。

ピラセタム (2048mg/kg 経口) は、同じ実験条件下で、ジアゼパムの健忘症誘発効果とは 89%、また電気ショックのそれとは 83% 拮抗した。

3) マウスの受動的回避試験において、スコポラミン誘発健忘症に及ぼす生成物 I の 1 回および反復投与の効果

#### A) 方法論

この試験は、一方では急性治療、他方では慢性治療における生成物 I の効果を示すもので、1 群当たり平均体重 25g から 26g を有する N.M.R.I. 株の雄マウスについて行なつた。

用いた操作条件および試験は前記のそれ (1) - A 参照) と同一である。

用いた生成物 I の投薬量は次の通りである：

1 回投与：4 日目の覚えの試行 (S1) の 60 分前に、0.0312mg/kg を投与。第 1 日目から 3 日目まで、動物は 1 日に 2 回蒸留水を受けた (0900 および 1600 時間)。

反復投与：4 日目の S1 の 60 分前に、0.0312mg/kg および 0.25mg/kg を 1 日 2 回 (0900 および 1600 時間) 3 日にわたり投与。

ピラセタム (2048mg/kg) は、同じ実験条件下で 1 回だけ投与し、標準化合物として使用した。

#### B) 結果

上記実験条件下で、試験された二つの投薬量において、1 回だけ投与した生成物 I は、スコポラミン誘発健忘症に対し明らかに拮抗した

(0.0312mg/kg の投薬量で拮抗 87%、

0.25mg/kg では 91%)。

同じ投薬量で 4 日間にわたり反復投与したところ、同じ実験条件下でスコポラミン誘発健忘症に対し一層顕著な拮抗を示した (それぞれ、93% および 106%)。1 \*

\* 回投与と反復投与との間の違いは、0.25mg/kg の投薬量で有意であつた。

これらの結果によると、生成物 I の反復投与は、単一投与後に観察された抗健忘症効果の減衰を誘発せず、その抗健忘症効果を強化する

と結論である。

しかし、最低用量における反復投与後の健忘症の拮抗は、最高ではなくまた標準化合物 (ピラセタム) によって得られた拮抗より低く留まっているので、この強化は余り顕著ではない。

#### 4) 生成物 I の抗健忘症効果の特異性の研究

上記試験に加えて、自発的運動性活動に及ぼすスコポラミン (1mg/kg 腹腔内) の効果との可能な相互作用および 4-プレート試験 (不安緩除行動) におけるジアゼパム (1mg/kg 腹腔内) の効果との可能な相互作用を評価するため、生成物 I を N.M.R.I. 株雄マウスへの経口投与後に調べた。

用いた投薬量は 0.25mg/kg であり、これを試験の 60 分前に (即ち、スコポラミンまたはジアゼパムの腹腔内注射の 30 分前) 投与した。これは、受動回避試験 (1, 2) においてスコポラミンまたはジアゼパムにより誘発された健忘症に対して拮抗する生成物 I の最高投薬量である。

得られた結果は、

行動/メートルで表わしたスコポラミン誘発運動過多の拮抗欠如

4-プレート試験で懲罰された行動の、ジアゼパム誘発非遮断の拮抗欠如

を示す。

これらの結果は、生成物 I の抗健忘症効果が、これら二つの健忘症誘発剤の特別な性質と結び付かず、低投薬量での生成物 I の抗健忘症作用の特異性を結論づけることを可能にすることに確証を与えるものである。

#### 【図面の簡単な説明】

第 1 図、第 2 図及び第 3 図は記憶についてのテスト結果を示すグラフである。

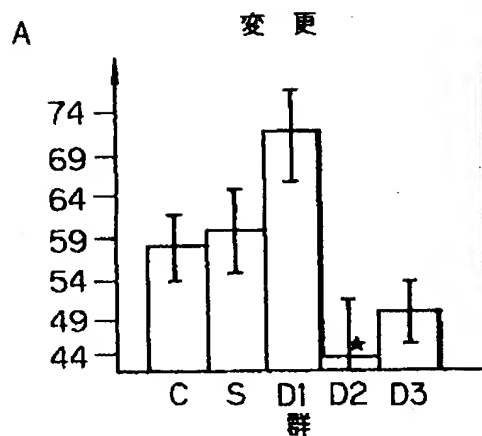
【第1図】

## 5) 結果のグラフ表示

自発的変更  
(平均 ± SD)

C : 対照  
S : 溶媒  
D1 : 0.0625 mg kg  
D2 : 0.25 mg kg  
D3 : 1.0 mg kg

★ (CおよびSと有意に異なる: $p < 0.05$ )

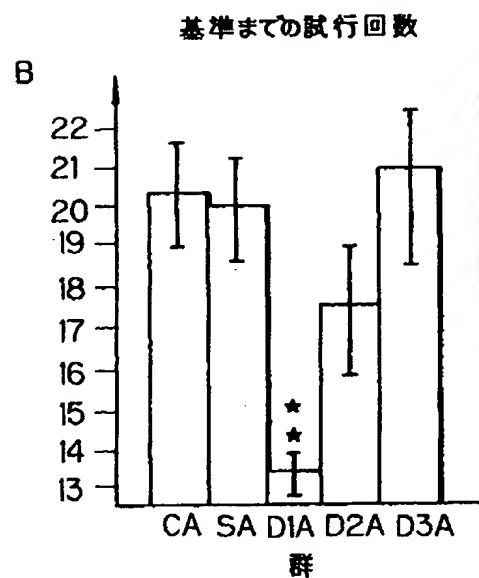


【第2図】

識別の獲得

(基準までの試行回数:平均 ± SD)

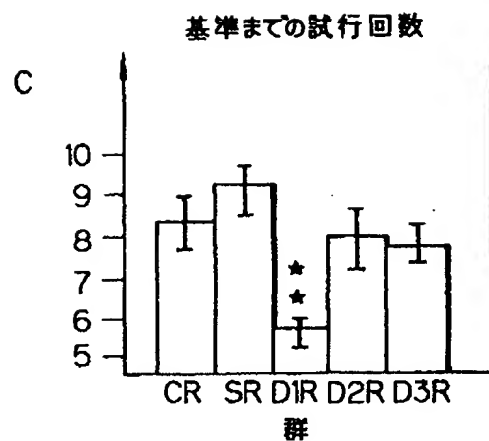
★★ (CおよびSと有意に異なる: $p < 0.001$ )



【第3図】

識別の保持

(第2図参照)

★★ (CおよびSと有意に異なる:  $p < 0.001$ )

フロントページの続き

(72)発明者 クロード ギロノウ  
 フランス国 クラマール, リュ デ ペル  
 ゲル 21

(72)発明者 ジャック ドウアウル  
 フランス国 クロワシイ スル セーヌ,  
 リュ ポール デマンジェ 14ビス